

課題名 (タイトル) :

## 分子動力学法を用いたプレ B 細胞レセプター non-Ig 領域の相互作用の解析

利用者氏名 : 藤本 浩文

所属 : 和光研究所 基幹研究所 先端計算科学研究領域 システム計算生物学研究グループ  
高速分子シミュレーション研究チーム

## 1. 本課題の研究の背景と目的

一般的に細胞表面に発現される様々なレセプターは特異的リガンドと結合し、それが引き金となって細胞内へシグナルが伝達される。しかし、B リンパ球前駆細胞であるプレ B 細胞では、特異的リガンドを必要とせず、細胞表面に発現するプレ B 細胞レセプター (preBCR) 同士の架橋による自己活性化 (autonomous self-crosslinking) によって増殖が促されるという説が有力である。preBCR の自己架橋には  $\mu$  H 鎖に結合する代替 L 鎖 (VpreB、および  $\lambda 5$ ) の非免疫グロブリン (non-Ig) 領域が重要な役割を果たしていると推察されているが、結晶構造解析ではその構造は決められず、実際にレセプター同士がどのように相互作用しているかに関しては推測の域を出ない。本課題では、分子動力学 (MD) 法等の計算化学的手法を用いて preBCR の non-Ig 領域の挙動を解析し、上記仮説を検証することを目的に研究を行っている。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

昨年度は既報のヒト preBCR の結晶構造 (PDB ID: 2H32) を元に、マウス preBCR の Ig 領域のホモロジーモデリングを行い、VpreB の C 末端、および  $\lambda 5$  の N 末端に、non-Ig 領域のアミノ酸をそれぞれ付加した分子モデルを作成した。マウス preBCR では分子生物学的実験によって  $\lambda 5$ , non-Ig 領域中の自己架橋に関与すると考えられるアミノ酸残基が同定されている。そこで野生型に加え、実験と同位置のアミノ酸残基を置換した変異体モデルも設計し、各分子モデルに対し、水溶液中で simulated annealing を行った。その結果、野生型、変異型共に Ig 領域の構造はほぼ保存されたのに対し、non-Ig 領域は特定の分子構造をとらないと予想された。次に、preBCR 分子の相互作用を解析するために、野生型、および変異型マウス preBCR を並べたモデルをそれぞれ作成し、それらを初期構造として MD シミュレーションを行ったところ、野生型マウス

preBCR 同士を作用させた場合に、両分子の接近が観察された。しかし、計算を行った全てのモデルにおいて、数十〜数百ピコ秒のうちに安定なはずの Ig 領域の分子構造が崩壊してしまうことも判明した。初期条件を変えてシミュレーションを繰り返したところ、計算時間を短縮するために擬似水溶液モデル (GB モデル) を用いたことが原因である可能性が高いことが推察された。そこで本年度は、上記の分子モデルに対し明示的に水分子を加えた系でシミュレーションを行い、preBCR 同士の相互作用が野生型と変異型でどのように変化するのかを観察した。

計算は RICC システム (年度の前半は旧 RSCC システム) Linux クラスタを用い、MD シミュレーションには AMBER8 および AMBER9 を用いた。また大規模分子シミュレーションを効率よく実行するために理研 GSC 高速分子シミュレーション研究チームが開発した分子動力学シミュレーション専用アクセラレータ MDGRAPE-3 を用いた。

## 3. これまで利用状況および次年度の利用予定

野生型 preBCR 分子同士、および変異型 preBCR 分子同士に対して、2 つの preBCR 分子を (a) VpreB non-Ig 領域を  $\lambda 5$  non-Ig 領域から離して配置、(b) VpreB non-Ig 領域を  $\lambda 5$  non-Ig 領域近傍に配置したモデルをそれぞれ作成し、それらに水分子を充填した系に対して MD シミュレーションを 5 ナノ秒間行った (図 1)。

その結果、どのモデルにおいても Ig 領域の分子構造は維持され、GB モデルを用いた場合のような分子構造の崩壊は観察されなかった。しかしながら、(a) の配置において、GB モデルを用いた場合と同様に 2 分子の接近が観察され、その分子間距離は 5 ナノ秒間維持されたものの、野生型と変異型では相対位置に差異が認められなかった。また、それぞれのモデルにおいて、non-Ig 領域が相互に作用する事象も観察されなかった。

したがって、この状態はλ5の non-Ig 領域を欠損させた突然変異体、もしくは、同領域中の塩基性アミノ酸を中性アミノ酸に置換した突然変異体では preBCR 同士が凝集しなくなるという既報の実験結果を再現しているとは考えにくい。

次年度は、引き続き2分子の VpreB およびλ5 の non-Ig 領域の相対位置が異なるモデルを複数作成し、MD シミュレーションを行うことで相互作用が起ると考えられる構造を検索する予定である。

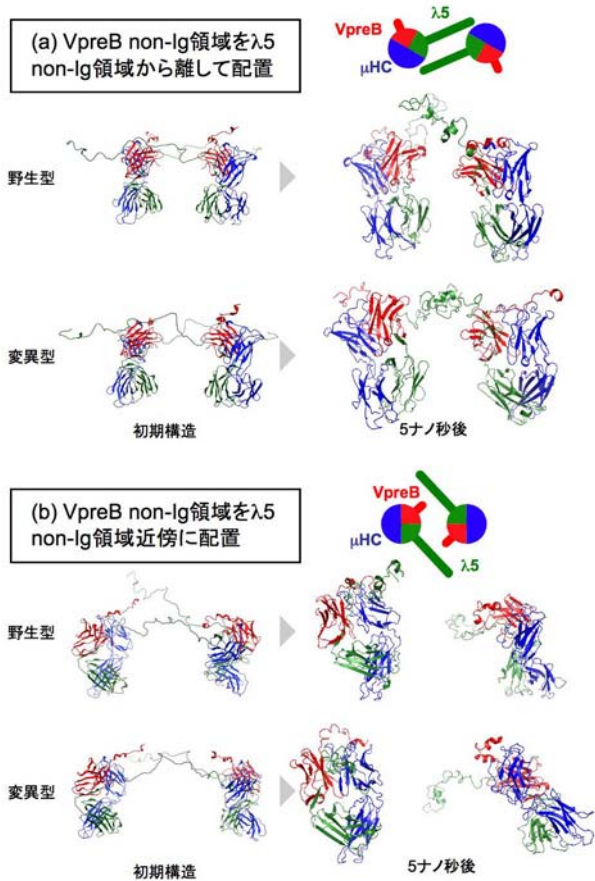


図1・マウス preBCR 分子間の相互作用

#### 4. 利用研究成果が無かった理由

本年度は、昨年よりもさらに規模の大きな系(30~45 万原子)に対する長時間のシミュレーションを行ったため、試行数が少なく、また、既報の実験結果を反映する有効な結果が得られなかったため、成果を発表する事ができなかった。